

JERZY ŁUKASIAK, KATARZYNA CZARNOBAJ

OCENA PRZYDATNOŚCI METODY KOLORYMETRYCZNEJ OPARTEJ NA
REAKCJI TWORZENIA BŁĘKITU KRZEMOMOLIBDENOWEGO DO
OZNACZANIA KRZEMIONKI W TŁUSZCZACH UTWARDZANYCH

EVALUATION OF THE USEFULNESS OF THE SPECTROPHOTOMETRIC METHOD
BASED ON THE REACTION OF FORMATION OF SILIC-MOLYBDENIC BLUE FOR
DETERMINATION OF SILICA IN HYDROGENATED FAT

Katedra i Zakład Chemii Fizycznej z Pracownią Analizy Instrumentalnej
Wydział Farmaceutyczny Akademii Medycznej w Gdańsku
80–416 Gdańsk, ul. Hallera 107
Kierownik Katedry: prof. dr hab. J. Łukasiak

*Dokonano oceny przydatności metody kolorymetrycznej do oznaczania jono-
wych form krzemu w tłuszczach utwardzanych (margarynach), dostępnych na
polskim rynku. Przeprowadzono walidację metody, określając jej precyzję, dokład-
ność oraz liniowość.*

WSTĘP

Krzemionka jest ogólnym terminem obejmującym substancje polimorficzne zawierające krzem związany z tlenem. Podstawowym elementem budowy krzemionki jest tetraedr SiO_4^{2-} , przy czym każdy jon tlenowy należy do dwóch tetraedów, co daje wzór sumaryczny SiO_2 . Różne usytuowanie tetraedów w przestrzeni powoduje, że SiO_2 jest substancją polimorficzną występującą w postaci 13 odmiennych modyfikacji krystalicznych lub jako substancja amorficzna.

Krzemionka krystaliczna, podobnie jak i inne ciała krystaliczne, ma określoną budowę wewnętrzną polegającą na rozmieszczeniu poszczególnych elementów budowy w prawidłowy geometrycznie sposób w przestrzeni.

Wynikiem braku uporządkowanego ułożenia przestrzennego tetraedów jest krzemionka bezpostaciowa (amorficzna), która podobnie jak krzemionka krystaliczna może występować w kilku odmianach. Niektóre z tych odmian otrzymywane są w wyniku procesów technologicznych np. szkło kwarcowe, żele krzemionkowe, włókna szklane itp. Inne odmiany krzemionki bezpostaciowej pochodzą z żywych organizmów i określone są jako biogenna krzemionka bezpostaciowa (*BAS – Biogenic Amorphous Silica*). Źródło *BAS* stanowią wirusy, bakterie, grzyby, gąbki, radiolarie, okrzemki i rośliny.

Naturalna kopalna krzemionka bezpostaciowa w handlu występuje najczęściej pod nazwą ziemi okrzemkowej lub diatomitu; spotykane są też nazwy Celite, Dicalite, Multicel 680, Super Floss, Diatomaceous Earth.

Krzemionka bezpostaciowa syntetyczna pod względem chemicznym jest czystym, bezwodnym lub uwodnionym ditlenkiem krzemu o różnych nazwach handlowych (Aerosil, Acticel, Aerogel, Aquatil, Arsil, Cab-O-grip, Cab-O-Sil, Cab-O-Sperse, Carplex, Cataloid, Colloidal Silica, Coloidal Silicon Dioxide, Davison, Deltasil, Durosil, Dri-Die, Imecticide, Ent, Extrusil, Fossil Flour, Fransil, Franteg, Fumed Silica, Hi-Sil, Hoesch KS, Ludox, Manosil, Nalcogag, Nipsil, Nyacol, Pigment-White, Positive-Sol, porasil, Quso, Santocel, Siflox, Silene D, Silihill, Sipernat, Snowtex, Syton, Tokusil, Ultrasil, Vulkasil, Wessalon, White-Carbon, Zeo 45, ze-O-Sil, Zeofree, Zipax, Zorbax-Sil) [7].

Krzemionka charakteryzuje się wysoką aktywnością adsorbacyjną, ze względu na występowanie na jej powierzchni grup siloksanowych i silanolowych, dlatego też wykorzystywana jest w przemyśle jako substancja filtrująca.

Człowiek ma kontakt ze związkami krzemu głównie poprzez żywność. Związki te mogą występować w środkach spożywczych jako:

- 1) składnik naturalny: produkty zbożowe, kasze, otręby, płatki oraz warzywa i owoce (szparagi, pietruszka, kalafior, szpinak, chrzan, ogórki, seler, pestki słonecznika, pomidory, buraki, marchew, proso, groszek, rzodkiewka, ziemniaki, kukurydza, pieczarki, ryż, soja, żyto, cebula, cytryny, jabłka, suszone śliwki, truskawki) oraz mleko, zioła, woda [8];
- 2) dodatek celowy: dodatek kształtujący strukturę, z wyjątkiem ziemi okrzemkowej i ziemi krzemionkowej, które zaliczone są do pomocniczych dodatków przetwórstwa [6];
- 3) zanieczyszczenie: a) środki ochrony roślin, b) opakowania, c) naczynia kuchenne (np. patelnie), d) urządzenia przemysłowe [3].

W Polsce brak jest szczegółowych wymagań regulujących stosowanie krzemionki amorficznej. Zarządzenie Ministra Zdrowia i Opieki Społecznej z dnia 3 marca 1993 roku [5], w sprawie wykazu substancji dodatkowych i zanieczyszczeń technicznych w środkach spożywczych i używkach, pozwala na stosowanie w przemyśle jedynie ziemi okrzemkowej, krzemionkowej, bentonitów i talku. Ziemia okrzemkowa i krzemionkowa mogą być stosowane jako substancje klarujące i filtrujące, np. przy produkcji olejów i margaryn.

W roku 2001 zostało wydane Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 27 grudnia 2000 roku w sprawie wykazu dopuszczalnych ilości substancji dodatkowych w środkach spożywczych i zanieczyszczeń chemicznych i mikrobiologicznych zezwalające na stosowanie jako substancje dodatkowe także amorficznego ditlenku krzemu E 551, krzemianu wapnia E 552, krzemianu magnezu E 553a, krzemianu glinu E 559 [2]. Dla związków tych wyznaczona została maksymalna zawartość w g/kg lub g/l, w określonych produktach spożywczych. Nie dotyczy to jednak margaryn i olejów. Ziemia okrzemkowa i krzemionkowa zostały sklasyfikowane jako substancje pomagające w przetwarzaniu. Stosowane są one w celu osiągnięcia zamierzonego efektu technologicznego, mogą jednak spowodować zanieczyszczenie produktu końcowego, co nie jest pożądane, gdyż z toksykologicznego punktu widzenia LD₅₀ dla krzemionki wynosi 3,16 g/kg [1], co klasyfikuje ją jako substancję słabo toksyczną.

Stosowanie krzemionki w procesach technologicznych stwarza wiele potencjalnych możliwości zanieczyszczenia produktów żywnościowych. Konieczne, w związku z tym,

staje się monitorowanie zawartości krzemionki w powszechnie dostępnych artykułach spożywczych.

Jako obiekt do badań wybrano margaryny, gdyż przy ich produkcji (a także produkcji olejów będących surowcem do produkcji margaryn) stosuje się amorficzny SiO_2 jako substancję klarującą i filtrującą. Informacje te wskazują na celowość oznaczania tych zanieczyszczeń.

CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

Materiał do badań

Materiał do badań stanowiły tłuszcze utwardzone (margaryny) oraz dla porównania tłuszczy płynny (olej). Badane produkty znajdowały się w oryginalnych opakowaniach handlowych i wszystkie zostały zakupione w sklepach na terenie Gdańska. Szczegółowe dane dotyczące poszczególnych produktów podano w tabeli I.

Tabela I. Szczegółowe dane dotyczące badanych tłuszczów jadalnych
Details concerning of the tested edible fats

Lp.	Nazwa produktu	Producent	Norma/seria/data ważności
1.	Margaryna „Rama”	Unilever Polska S.A.	PN-92/A-86907 13.07.2001
2.	Margaryna „Tina”	Z.T. Kruszwicka S.A.	25.06.2001
3.	Margaryna „Nowa”	Zakłady Tłuszczowe S.A. w Warszawie	23.08.2001
4.	Margaryna „Kruszwicka”	Z.T. Kruszwicka S.A.	10.07.2001
5.	Masło roślinne „Olvit”	Olvit Sp. z o.o.	22.08.2001
6.	Margaryna „Kasia”	Unilever Polska S.A.	PN-92/A-86907 12.06.2001
7.	Margaryna „Palma”	Olvit Sp. z o.o.	30.06.2001
8.	Margaryna „Znakomita”	Elmilk Sp. z o.o.	12.07.2001
9.	Margaryna „Fraszka”	Raisio Polska Food Sp. z o.o.	09.09.2001
10.	Olej słonecznikowy „Bartek”	Z. Tłuszczowe S.A. w Warszawie	P/04/14/05/A 04.2001

Odczynniki

- 1) wzorzec krzemu 1 g/l, firmy Merck,
- 2) 1,25 molowy kwas siarkowy;
- 3) 5% roztwór molibdenianu amonowego;
- 4) 5% roztwór kwasu szczawiowego;
- 5) 5% roztwór redukcyjny – żelazo Fe (II) – sól *Mohra*;
- 6) żel krzemionkowy–Aerosil, Zakłady Chemiczne „Rudniki” Częstochowa;
- 7) kwas siarkowy cz.d.a.;
- 8) wodorotlenek sodowy ekstra czysty, Merck.

Aparatura

Spektrofotometr UV-VIS firmy Hewlett Packard 8452A.

Metoda oznaczania krzemionki z zastosowaniem techniki spektroskopii UV-VIS

Zastosowana metoda służy do oznaczania krzemionki w postaci zdysocjowanej. Oznaczenie przeprowadzono metodą spektrofotometryczną w zakresie światła widzialnego. Podstawą oznaczenia jest reakcja zdysocjowanej krzemionki w środowisku silnie kwaśnym z molibdenianem amonu, w wyniku której powstaje żółto zabarwiony kwas krzemomolibdenowy. Intensywność zabarwienia jest proporcjonalna do zawartości krzemionki w roztworze. Powstały kompleks pod wpływem soli *Mohra* przechodzi w błękit krzemomolibdenowy [4].

Przygotowanie i pomiar roztworów wzorcowych

Sporządzono roztwory wzorcowe krzemu w zakresie stężeń od 0,1 do 1,0 mg/l. W kolbach miarowych o pojemności 100 ml umieszczono odpowiednio objętości roztworu podstawowego krzemu o stężeniu 10 mg Si/l w ilości od 1 do 10 ml, dodawano 1 ml 1,25 mol/l kwasu siarkowego oraz 5 ml 5% roztworu molibdenianu amonu. Po 20 minutach dodawano 20 ml wody redestylowanej, 5 ml 5% roztworu kwasu szczawowego i 3 ml 0,25% roztworu soli *Mohra*, reduktora zawierającego Fe(II). Zawartość kolby uzupełniano do kreski wodą redestylowaną i po 30 minutach wykonywano pomiar absorbancji. Pomiary dokonywano w kuwetach o grubości warstwy 1 cm przy długości fali $\lambda = 814$ nm.

Na podstawie wartości absorbancji roztworów wzorcowych wyznaczono parametry równania regresji: $a = 0,6518$, $b = 0,0235$, $r = 0,9949$

Oznaczanie zawartości krzemionki w margarynach, po uprzedniej mineralizacji

Do tygla platynowego dodano ok. 1 g margaryny następnie 40 pastylek stałego NaOH i ogrzewano najpierw delikatnie, później bezpośrednio nad płomieniem palnika gazowego przez 30 min. Po tym czasie tygiel odstawiono do ostygnięcia.

Następnie przygotowano w zlewce roztwór: 10 ml wody destylowanej i 20 ml 1,25 molowego kwasu siarkowego, do którego przeniesiono po ostygnięciu tygiel z zawartością. Dodawano kwasu siarkowego do uzyskania $\text{pH} = 1$ i sączono przez bibułę filtracyjną do kolbki na 100 ml. Dodano odczynników tak jak przy badaniu wzorców.

Oznaczenie przeprowadzono metodą spektrofotometrii UV-VIS, przy długości fali $\lambda = 814$ nm. Wyniki oznaczeń zawartości krzemionki w margarynach i oleju wskazują na brak SiO_2 w tych produktach.

Oznaczanie stopnia odzysku krzemionki z badanych próbek margaryny

Ze względu na brak krzemionki w badanych tłuszczach zastosowano metodę dodawania wzorca w celu sprawdzenia przydatności opracowanej metodyki oznaczania SiO_2 w tłuszczach utwardzanych. Do próbek margaryny dodawano 50 mg czystego SiO_2 . Próbkę mineralizowano zgodnie z podanym powyżej opisem.

Następnie przygotowano w zlewce roztwór: 10 ml wody destylowanej i 20 ml 1,25 molowego kwasu siarkowego, do którego przeniesiono zimny tygiel z mineralizatem. Dodawano kwasu siarkowego do uzyskania $\text{pH} = 1$ i sączono przez bibułę filtracyjną do kolbki na 100 ml. Kolbkę uzupełniano wodą redestylowaną do objętości 100 ml. Z kolbki pobrano 0,5 ml roztworu i dodano odczynników tak jak przy badaniu wzorców. Próbkę oznaczenia krzemionki przeprowadzono zgodnie z poprzednim punktem.

Dla potwierdzenia braku zanieczyszczeń przeprowadzono między próbami właściwymi próby zerowe.

Wyniki badań dotyczące odzysku SiO_2 dodawanego do próbek margaryn podano w tabeli II.

Tabela II. Wyniki badania odzysku SiO₂ z próbki margaryny „Rama” (w %)
 Recovery of SiO₂ from the samples of margarine (in %)

Lp.	Stężenie Si w próbce badanej [mg/l]	Odzysk (w %)
1.	0,9076	77,70
2.	0,9293	79,56
3.	0,8782	75,19
4.	0,9084	77,77
5.	0,9377	80,28
6.	0,9073	77,68
7.	0,8897	76,17
8.	0,9150	78,34
9.	0,8900	76,20
10.	0,9142	78,27
11.	0,9016	77,19
12.	0,9023	77,25
13.	0,9266	79,33

Parametry walidacyjne:

Wartość deklarowana w próbkach	1,1680 mg Si/l
Średnie stężenie oznaczone w próbkach	0,9083 mg Si/l
Błąd metody	- 22,23%
Odchylenie standardowe	0,0207
Względne odchylenie standardowe	2,27%
Przedział ufności ($\alpha = 0,05$)	0,0217
Odchylenie standardowe dla matrycy	0,0062
Wykrywalność	0,0285 mg/l
Oznaczalność	0,0570 mg/l

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Oznaczanie SiO₂ w wybranej grupie produktów spożywczych (margarynach) prowadzono wykorzystując metodę kolorymetryczną (metodę błękitu krzemomolibdenowego). W badaniach tych zwrócono szczególną uwagę na etap izolowania i wzbogacania próbki przed oznaczeniem.

Proces przygotowania próbki do oznaczenia krzemionki w margarynach ma bardzo duży wpływ na wynik analizy. Mineralizacja margaryn znacznie utrudnia oznaczenie krzemionki metodą kolorymetryczną. Proces ten prowadzi do powstania w analizowanych próbkach osadów i zmętnień, które trudno jest usunąć nawet przez kilkakrotną filtrację. Ustalono optymalne warunki mineralizacji poddając jednogramową próbkę margaryny działaniu 40 pastylek stałego NaOH i ogrzewając w tyglu platynowym bezpośrednio nad płomieniem palnika gazowego przez 30 minut.

Bardzo ważnym parametrem przy oznaczaniu krzemionki metodą kolorymetryczną jest pH. Próbka po mineralizacji ma odczyn silnie zasadowy natomiast kolorymetryczne

oznaczenie krzemionki przeprowadza się w środowisku silnie kwaśnym (pH=1). Ważne jest więc kontrolowanie kwasowości środowiska, gdyż w przypadku wyższego pH (2–4), reakcji ulega sam kwas molibdenowy dając podobne zabarwienie próbki i fałszując wyniki.

Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że średni odzysk SiO₂ obliczony na podstawie 13 niezależnych oznaczeń wyniósł 77,77 %, zaś wyniki zawierały się w granicach 75,19 – 80,28%.

Opracowaną metodą oznaczano zawartość krzemionki w badanych próbkach margaryny. Granica oznaczalności metody dla tak prowadzonego procesu oznaczania wynosiła 15,6 mg SiO₂/kg margaryny. Stosując tę metodę do oznaczania krzemionki w margarynach nie stwierdzono w tych produktach zawartości SiO₂.

WNIOSKI

1. Opracowano kolorymetryczną metodę oznaczania związków krzemu w tłuszczach utwardzanych, opartą na reakcji tworzenia błękitu krzemomolibdenowego, o granicy oznaczalności wynosi 15,6 mg/kg i średnim odzysku 77,77%

2. Stosując powyższą metodę nie stwierdzono obecności krzemionki w badanych próbkach margaryn. Uzyskane wyniki świadczą o braku krzemionki w badanych margarynach na poziomie oznaczalności metody, co wskazuje że krzemionka stosowana jako substancja filtrująca w procesie produkcji margaryn i olejów nie stanowi zanieczyszczenia ww. tłuszczów.

3. Opracowana metoda nadaje się do oznaczania zawartości SiO₂ w tłuszczach utwardzonych.

J. Łukasiak, K. Czarnobaj

EVALUATION OF THE USEFULNESS OF THE SPECTROPHOTOMETRIC-METRIC METHOD BASED ON THE REACTION OF FORMATION OF SILIC-MOLYBDENIC BLUE FOR DETERMINATION OF SILICA IN HYDROGENATED FAT

Summary

The spectrophotometric method based on the reaction of formation of silic-molybdenic blue for determination of silica (silicon dioxide) in hydrogenated fat was developed.

Determination limit of silica in this method was 15.6 mg/kg and average recovery 77.77%. Using this method the content of silica in the edible fat (margarine) taken from the market was determined. The samples of margarine before determination of silicon dioxide were mineralised and than the analyte was concentrated. The silica was not found in the margarine samples at levels above the determination limit of spectrophotometric method i.e. 15.6 mg/kg.

PIŚMIENNICTWO

1. *Branen L., Davidson M., Salminen S.*: Food Additives, 1990, s. 525.
2. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 27 grudnia 2000r w sprawie substancji dodatkowych i innych substancji obcych dodawanych do środków spożywczych lub używek, a także zanieczyszczeń które mogą znajdować się w środkach spożywczych lub używkach. Dz.U. z dnia 5 lutego 2001 r. Nr 9, poz. 72.
3. *Kazo M.*: New Food Ind., 1992, 34(6), 17–20.

4. *Marczenko Z., Balcerzak M.*: Krzem. W: Spektrofotometryczne metody w analizie nieorganicznej, red. *Galus M.*, PWN, Warszawa, 1998, 253–258.
5. Monitor Polski, nr 22, poz. 233, Warszawa 11.05.1993.
6. *Rutkowski A., Gwiazda S., Dąbrowski K.*: Dodatki funkcjonalne do żywności. *Agro & Food Technology*, 1993, 159–160.
7. *Woźniak H., Więcek E.*: Krzemionki bezpostaciowe. Rodzaje, skutki zdrowotne ekspozycji, *NDS. Medycyna Pracy* 1995, 46, 179–187.
8. *Zielecka M.*: Krzem – pierwiastek uniwersalny. *Wiadomości Zielarskie*, 1996, 6, 1–2.

Otrzymano: 2001.09.24